平成 23 年度新潟薬科大学薬学部卒業研究Ⅱ

論文題目

臨床における糖尿病患者の自己注射適正使用に関する検討―懸濁インスリン製剤の保管環境と混和法およびインスリン製剤とリラグルチド製剤の保存剤の効果について

Examination of The Self-Injection Proper Use by Diabetes Patients —The Storage Environment and The Mixture Method of Insulin Susupension, and The Effect of The Preservative of Insulin and Liraglutide—

臨床薬学研究室　6 年

06P029　川崎　恵美

（指導教員：朝倉　俊成）

要 旨

懸濁インスリン製剤は濃度が均一になるよう十分混和しないと有効性や安全性が保たれない．しかし実際には混和が不十分な患者がおり，さらに保管法についても規定通りに行えていない患者がいることから，混和法や保管についての検討が必要と考えた．そこで，どの混和法が最も混ざりやすいか実験を行い，その混和法を用いて製剤別の懸濁のしやすさについての検討を行った．さらに、臨床における懸濁製剤の保管と混和に関する現状を把握するためにアンケート調査を行った．結果，20～24℃に水平保管し，手のひらで水平に 10 回/5 秒で回転させせた後，上下に 10 回/10 秒で往復させる方法（R-T1）が最も混ざりやすく，結晶濃度も最も適正濃度に近かった．R-T1 を用いた製剤別の懸濁しやすさの結果は，二相性インスリンアナログ製剤のノボラピッド®50 ミックス注フレックスペン®とノボラピッド®70 ミックス注フレックスペン®が特に混ざりにくく，結晶濃度も適正濃度から大きくずれ，ばらつきも大きかった．アンケート調査の結果は、混和に関しては，95.7％の患者が混和の必要性を理解しているにもかかわらず、規定あるいは推奨されている方法で混和している患者は 21.6％であり．中には自己流の方法で混和している患者もいた．保管に関しては 15.4％が使用中のインスリンを冷蔵庫や車の中など不適切な場所で保管していた．以上のことから，懸濁製剤を完全に懸濁するためには，使用中は低温保管を避け，冷たくなった場合は手のひらで人肌程度に温めてから混和する，混和は R-T1 を用い，1 セットごとに結晶の塊の有無を確認しながら 2 セット以上行い，結晶の塊がなくなるまで混和することが必要であると考える．さらに、手技や保管法について適正に行えているか定期的に確認を行い，できていない患者に対しては再指導を行う必要があると考える．

また，現在臨床使用されているインスリン製剤には，抗菌保存剤として 0.15～0.315％の m-クレゾールが含まれているが，2010 年に発売されたヒト GLP-1 アナログ注射液ビクトーザ®皮下注 18mg には m-クレゾールではなく 0.55％のフェノールが含まれている．そこで，超速効型インスリンアナログ注射液のノボラピッド®注フレックスペン®とビクトーザ®皮下注 18mg を用いて，常在菌に対する殺菌効果の比較を行い，同時に適切な保管温度についての検討を行った．結果，同じ保管温度における殺菌効果は製剤間でほとんど差はなかったが，4℃と 25℃では 25℃で保管した方が高い殺菌効果を示した．このことから，使用中のインスリン製剤およびリラグルチド製剤は規定通り室温で保管しなければならないといえる．

キーワード

1. インスリン	2. 自己注射	3. 懸濁製剤
4. 適正使用	5. 保管	6. 混和法
7. リラグルチド	8. 保存剤	9. 殺菌
10. 糖尿病	11.	12.
13.	14.	15.
16.	17.	18.
19.	20.	

目　次

論　文

1. はじめに

インスリン製剤は１型糖尿病には必須であるが，２型糖尿病に対しても合併症の発症・進展防止に早期からインスリン療法を導入することが有用であることが示されている[1].

また，インスリンは製剤によって作用発現時間や作用持続時間が異なる多くの種類が開発されており，患者の年齢や職業などの背景ごとに適した製剤を選択することができる.

インスリン製剤のうち，中間型ヒトインスリン製剤（NPH インスリン：Neutral Protamine Hagedorn Insulin）は，インスリンにプロタミン，亜鉛およびリン酸緩衝液を加えて結晶を作り，懸濁化することによってインスリンの吸収を遅らせた製剤である. また，速効型インスリン製剤と混合することによってそれぞれの作用時間を確保できるため，混合比を変えることで多くの混合製剤が臨床で使用されている[2]. 速効型インスリン製剤や NPH インスリン製剤の作用時間は用量依存的に長くなることから，注入する結晶成分の割合が変化するとインスリンの作用発現時間，ピーク時間および作用持続時間に影響し，血糖コントロールが不良になる，低血糖になる等，有効性や安全性が保たれないことが十分に考えられる.

2. 懸濁インスリン製剤の保管環境と混和法の検討

懸濁インスリン製剤（以下，懸濁製剤）は混和回数が少ないと結晶成分の濃度（以下，結晶濃度）のばらつきが大きくなるという報告[3~5]があり，適正濃度の懸濁製剤を使用するには十分な混和が必要であることを示している. しかし，臨床では混和忘れや混和が不十分な患者がいるという報告[6][7]がある. 本研究で行ったアンケート調査の結果によると，混和法・回数ともに添付文書に規定あるいはメーカーが推奨している方法で混和している患者は 21.5％であった.

また，いずれのインスリン製剤も保管に関して「未使用時は凍結を避けて 2～8℃に遮光保存. 使用中は冷蔵庫に保存しないこと」と規定されていることから，患者の管理の仕方が製剤の品質に大きく影響することが考えられる. そのため患者は交付された懸濁製

剤を温度や光などに十分配慮し保管しなければならない. しかし, 本研究で行ったアンケート調査の結果によると, 15.3%の患者が使用中のインスリンの保管を冷蔵庫や車の中など規定とは異なった不適切な場所で保管していた.

以上のことから, 特に混和法についてはほとんどの患者が規定通りに行えておらず, 保管についても間違った認識をしている患者がいることがわかり, 混和法と保管についての検討が必要であると考えた. そこでわれわれは臨床での保管環境および混和法における混和状態を評価し, 濃度を均一にするのに最適な保管環境と混和法の検討を行った. そして, 最も混ざりやすい混和法を用いて, 製剤別の懸濁しやすさについて試験を行った.

(1)濁度による混和状態の測定

1)試料および方法

①試料

a. 混和しやすい保管条件と混和法の検討

ノボリン®30R 注フレックスペン®(30R;Lot. YH70075), ノボラピッド®30 ミックス注フレックスペン®(30MIX;Lot. XH70195, YH70029, YH70111), ノボラピッド®50 ミックス注フレックスペン®(50MIX;Lot. YP50472), ノボラピッド®70 ミックス注フレックスペン®(70MIX;Lot. YP50371), ヒューマログ®ミックス 25 注ミリオペン®(HM25;Lot. A664375D, A664382F), ヒューマログ®ミックス 50 注ミリオペン®(HM50;Lot. A684473E)を試験用に各 2 本と検量線用に各 1 本を使用した.

b. 製剤の懸濁しやすさの研究

30R(Lot. YH70309, YH70837), 30MIX(Lot. YH70272, YH70941), 50MIX(Lot. YP51326, YP50473), 70MIX(Lot. YP51480, YP50862, YP50372), HM25(Lot. A674276E, A748654E), HM50(Lot. A723740D, A788792F)を各 6 本使用した.

a, b とも, 注射針はペンニードル®32G テーパー6mm 針(ニプロ-ノボ ノルディスク ファーマ:以下, PN32GT)で統一した.

②方法

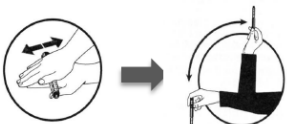
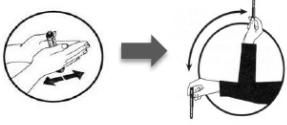
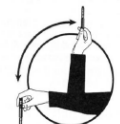
a. 保管条件と混和法の検討

混和法	製剤
Rolling-Turning第1法 （R-T1法） 手のひらで水平に回転（10回/5秒）させた後，上下に往復（10回/10秒）させる	二相性インスリンアナログ製剤 （ノボノルディスクファーマ）
Rolling-Turning第2法 （R-T2法） 手のひらで垂直にした状態で回転（10回/5秒）させた後，上下に往復（10回/10秒）させる	インスリンアナログ混合製剤 （イーライリリー）
Turning法 （T法） 上下に往復（10回/10秒）させる	混合型ヒトインスリン

Table1 混和法

未使用の試料を用いてインスリンカートリッジ内に結晶がなくなるまで十分に混和した後，2 条件の温度下（2ー8℃，20ー24℃）に水平（トレイに水平に寝かせた状態）または垂直（ゴム栓を上にした状態で試験管立てに立てた状態）に 24 時間以上保管した．その後インスリン製剤を手のひらで水平に 10 回/5 秒で回転させた後，上下に 10 回/10 秒で往復させる方法（Rolling-Turning 第1法：R-T1），インスリン製剤を手のひらではさみ，製剤を垂直にして 10 回/5 秒で回転させた後，上下に 10 回/10 秒で往復させる方法（Rolling-Turning 第2法：R-T2），製剤を上下に 10 回/10 秒で往復させる方法（Turning 法：T）の 3 つの混和法にて混和し，目視による混和状態と濁度測定で評価した．（Table1）

目視判定は，蛍光灯にカートリッジを透かして塊の有無を観察し，完全に混和されている状態を「塊なし（表記：○）」，塊の直径が最大のもので約 2mm 未満である状態を「微小な塊あり（△）」，塊のなかに直径約 2mm 以上のものが存在する状態を「塊あり（×）」とした．判定の結果，「微小な塊あり」または「塊あり」の場合は同じ混和法を繰り返し再度混和状態の判定を行った．なお，最大5回まで混和し何回目で「塊なし」になったかを記録した．5回混和しても「塊なし」にならなかった場合はそこで中止した．目視判定の点数化は，1回目の混和で「塊なし」となったら 5 点，2 回目は 4 点，以下混和回数が 1 回増えるごとに 1 点ずつ減らしていった．

各試料の 1 回目の混和後，注射針を装着して 2 単位空打ちを行い，8 単位（インスリン液量 80μL）のインスリンを 8 単位/2 秒の速度で試験管内に注入した．また，注入後のカウント時間は 10 秒とし，完全にインスリン液が針先から出なくなるまで注入ボタンを押し続

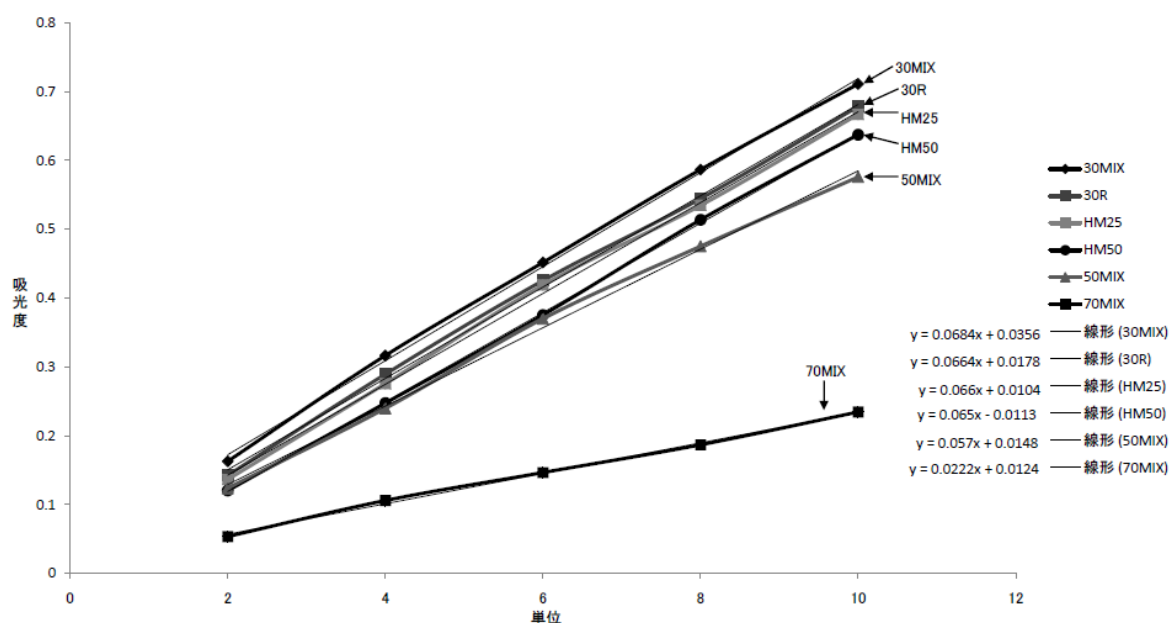



Fig.1 検量線

けた. 得られた80μLの試料に試料と同じ温度の蒸留水920μLを加えて全量を1,000μLとし, ボルテックスミキサーで縦横それぞれ10秒間攪拌し, マイクロプレートに200μLずつ分注し(n=3), さらに10秒間攪拌して波長415nmで吸光度を測定した. 得られた吸光度から蒸留水の吸光度を引いて補正し, 検量線より結晶濃度(%)に換算した(Fig.1).

b. 製剤の混ざりやすさの研究

実験aでどの混和法が混ざりやすいか確認し, aの結果から得られた最も混ざりやすい混和法で各製剤6本ずつ用いてaと同様の方法で試験を行った. また, 臨床においては正しい濃度のインスリンを注入することが必要である. そこで, 濁度測定は1回目の混和後だけでなく, 1回目で8単位採取した状態で2回目の混和後の濁度がどうなるのか確認するために2回目の混和後についても測定を行った.

2)結果

①保管条件と混和法の検討(Table2)

a. 目視による判定

ⅰ)2～8℃・水平保管

3つの混和法とも, 30MIXと50MIX, 70MIXで混和しにくい傾向が確認された.

ⅱ)20～24℃・水平保管

R-T1 では，70MIX のみが混和しにくく，R-T1＞R-T2＞T の順で混和しやすかった．

Table2 目視および濁度結果一覧

		水平												垂直									
		2～8℃						20～24℃						2～8℃						20～24℃					
	製剤名	結晶濃度	目視判定 1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	結晶濃度	目視判定 1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	結晶濃度	目視判定 1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	結晶濃度	目視判定 1回目	2回目	3回目	4回目	5回目
R-T1	30R	109.0	×	×	×	×	△	104.5	○					100.1	○					93.6	○				
		107.4	△	△	△	△	△	103.2	○					112.0	○					106.9	○				
	HM25	124.6	○					107.7	○					126.5	○					112.3	○				
		120.2	○					108.0	○					112.0	○					112.1	○				
	HM50	117.4	○					94.9	○					125.0	○					108.5	○				
		117.6	○					108.2	○					114.5	○					103.5	○				
	30MIX	108.2	×	×	×	×	△	109.2	○					121.9	○					94.2	△	○			
		96.7	△	△	△	△	△	105.9	○					109.9	△	○				104.2	○				
	50MIX	90.6	×	×	○			99.6	○					89.4	×	×	○			103.0	○				
		65.4	×	×	×	×	×	103.0	○					69.7	×	○				77.3	△	△	○		
	70MIX	148.9	×	×	○			154.2	×	○				74.4	×	×	×	○		147.9	△	○			
		170.7	×	△	○			95.8	×	×	×	×	△	127.2	×	×	○			128.4	△	△	△	△	△
R-T2	30R	113.6	×	○				102.7	○					107.6	×	×	×	×	×	116.3	○				
		113.7	○					103.8	○					111.2	△	○				97.8	○				
	HM25	117.4	○					109.2	○					117.6	○					108.5	○				
		113.9	△	○				114.7	△	○				121.5	○					114.0	○				
	HM50	110.9	△	△	△	△	△	101.8	○					116.0	○					106.4	△	○			
		117.4	○					99.5	△	○				112.2	○					110.1	○				
	30MIX	112.6	○					99.1	○					113.6	○					92.9	△	○			
		102.1	×	×	×	×	△	106.4	○					110.2	△	○				96.1	○				
	50MIX	98.7	×	×	×	×	×	111.1	△	○				104.2	×	×	○			103.4	○				
		82.6	×	×	×	×	×	74.4	×	△	△	△	△	67.8	×	△	△	△	△	78.2	△	△	△	△	△
	70MIX	134.4	×	×	○			159.8	×	○				148.9	×	△	○			163.3	×	△	○		
		140.7	×	×	×	○		116.3	△	○				70.9	×	×	△	△	△	118.1	△	△	△	△	△
T	30R	123.8	○					108.2	○					101.1	○					101.0	○				
		112.9	×	×	△	○		113.0	○					103.8	○					116.6	○				
	HM25	117.6	○					121.2	△	○				98.3	×	△	○			110.5	○				
		123.3	△	○				107.1	×	○				109.0	○					107.2	○				
	HM50	120.4	×	○				108.7	△	○				117.2	×	○				106.3	○				
		118.6	○					109.6	△	○				108.8	×	○				101.8	×	○			
	30MIX	111.4	△	○				101.4	×	×	×	×	×	79.4	×	×	△	△	△	88.8	×	△	△	△	△
		95.3	△	△	△	△	△	111.2	×	○				98.8	×	△	○			108.3	○				
	50MIX	83.5	×	×	×	△	△	102.7	×	△	△	○		70.3	×	×	×	△	△	84.9	×	○			
		45.6	×	×	×	×	×	25.6	×	×	×	×	×	87.7	×	×	×	△	○	52.3	×	△	△	△	△
	70MIX	157.2	×	×	○			114.4	×	×	△	○		55.8	×	×	×	△	△	118.9	×	△	○		
		27.7	×	×	×	×	×	90.5	×	×	×	×	×	45.1	×	×	×	△	△	88.8	×	△	△	△	△

Table3 目視評価点数

n=2

保管姿勢	水平						垂直						計
保管温度	2～8℃			20～24℃			2～8℃			20～24℃			
混和法	R-T1	R-T2	T	R-T1	R-T2	T	R-T1	R-T2	T	R-T1	R-T2	T	
30R	0	9	7	10	10	10	10	4	10	10	10	10	100
HM25	10	9	9	10	9	8	10	10	8	10	10	10	113
HM50	10	5	9	10	9	8	10	10	8	10	9	9	107
30MIX	0	5	4	10	10	4	9	9	3	9	9	5	77
50MIX	3	0	0	10	4	2	7	3	1	8	5	4	**47**
70MIX	6	5	3	4	8	2	5	3	0	4	3	3	**46**
計	29	33	32	54	50	34	51	39	30	51	46	41	490

	保管温度 (n=12)		保管姿勢 (n=12)		混和法 (n=8)		
	2～8℃	20～24℃	水平	垂直	R-T1	R-T2	T
30R	40	60	46	54	30	33	37
HM25	56	57	55	58	40	38	35
HM50	52	55	51	56	40	33	34
30MIX	30	47	33	44	28	33	16
50MIX	14	33	19	28	28	12	7
70MIX	22	24	28	18	19	19	8
計	214	276	232	258	185	168	137

「塊なし」
1回目：5点
2回目：4点
3回目：3点
4回目：2点
5回目：1点

ⅲ)2～8℃・垂直保管

3 つの混和法とも，50MIX と 70MIX が混和しにくい傾向にあった.

ⅳ)20～24℃・垂直保管

2～8℃と同様の結果であった.

ⅴ)目視評価点数（Table3）

目視評価点数（高点数＝混ざりやすい）は，条件別では「20～24℃」「垂直」「R-T1」で点数が高かった. 保管条件と混和法の組み合わせは，「20～24℃・水平・R-T1」が最も点数が高く，6 製剤中 5 製剤で 10 点（1 回の混和で 2 本とも「塊なし」）であった. 製剤別では，HM25 および HM50 で 10 点になったのは 24 組中 11 組であり，両製剤とも 20～24℃，垂直，R-T1 で点数が高かった. しかし，30MIX，50MIX，70MIX で 10 点になったのは 36 組中 3 組であった. また， 50MIX は計 47 点，70MIX は計 46 点と他の製剤と比べて点数が低かった. 特に 70MIX は 1 つも 10 点満点がなく，他の製剤が全て 10 点であった「20～24℃・水平・R-T1」でも，70MIX は 4 点であった.

b. 濁度

ⅰ)2～8℃・水平保管

R-T1 では，50MIX は 1 本が 65.4％と非常に低く，70MIX は 148.9％，170.7％と 2 本とも非常に高かった. また，HM25 は 1 回目の混和で「塊なし」であったが，結晶濃度は 124.6％，120.2％と高かった. R-T2 では，70MIX が 134.4％，140.7％と非常に高かった. T では，50MIX の 1 本が 45.6％と非常に低かった. また，70MIX は 1 本が 157.2％と非常に高く，もう 1 本が 27.7％と非常に低かった.

ⅱ)20～24℃・水平保管

R-T1 では，70MIX の 1 本が 154.2％と非常に高かったが，それ以外は全てほぼ 100％前後であった. R-T2 では，50MIX の 1 本が 74.4％と低く，70MIX の 1 本が 159.8％と非常に高かった. T では，50MIX の 1 本が 25.6％と非常に低かった.

ⅲ)2～8℃・垂直保管

R-T1 では，HM25，HM50，30MIX の各 1 本が 1 回目の混和で「塊なし」であったが，結晶濃度はそれぞれ 126.5％，125.0％，121.9％と高かった. また，50MIX は 1 本が 69.7％と非常に低かった. 70MIX は 1 本が 74.4％と低く，もう 1 本が 127.2％と高かった. R-T2 では，50MIX の 1 本が 67.8％と非常に低かった. 70MIX は 1 本が 148.9％と非

常に高く，もう1本が70.9%と非常に低かった．Tでは，30MIXの1本が79.4%，50MIXの1本が70.3%と低かった．70MIXは，55.8%，45.1%とさらに低かった．

ⅳ)20～24℃・垂直保管

R-T1では，50MIXの1本が77.3%と低く，70MIXは147.9%，128.4%と2本とも非常に高かった．R-T2では，50MIXが78.2%と低く，70MIXが163.3%と非常に高かった．Tでは，50MIXの1本が52.3%と非常に低かった．

ⅴ)結晶成分濃度の比較（Fig.2、Fig.3）

70MIXが適正濃度（100%）から大きくずれており，次いで50MIXもずれていた．また，「20～24℃・水平・R-T1」が，適正濃度の近くに最もプロットが集中した．保管環境や混和法などの条件にかかわらず，製剤別の結晶濃度を求めたところ，30Rは107.7±6.8%（mean±SD），HM25は113.9±6.6%，HM50は110.6±7.2%，30MIXは103.2±9.2%，50MIXは82.1±20.5%，70MIXは116.6±39.1%となり，50MIXと70MIXのばらつきが大きかった．

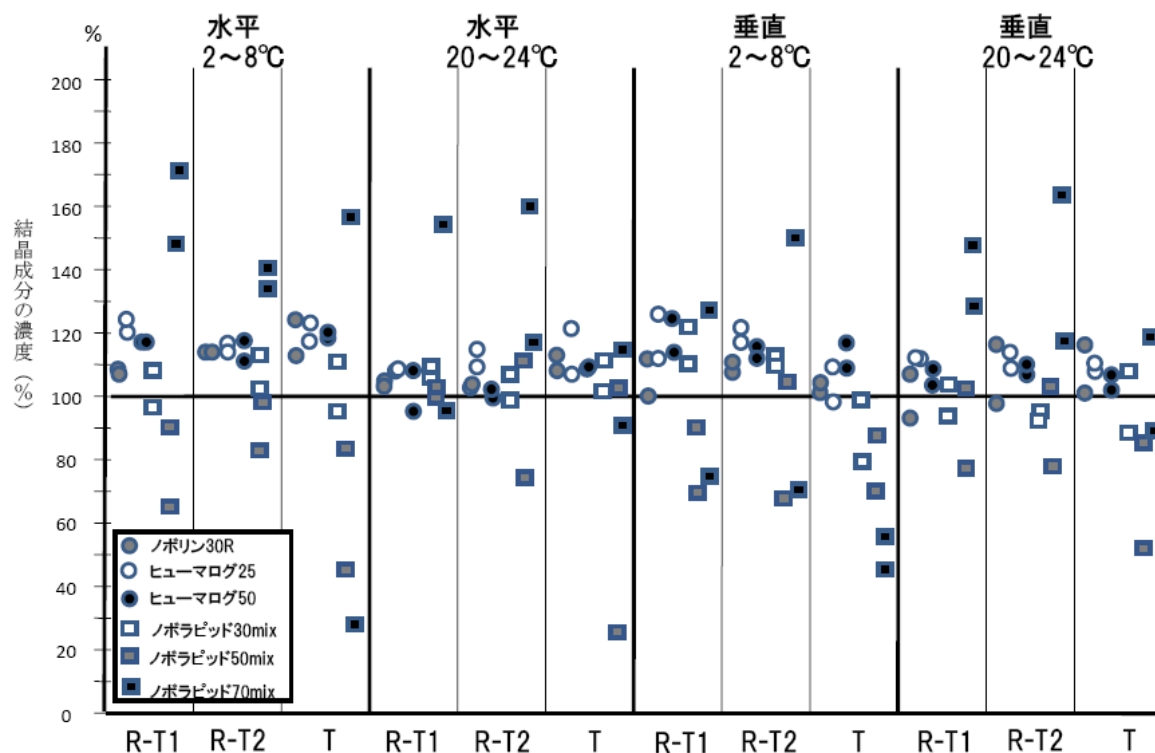



Fig.2 結晶成分濃度

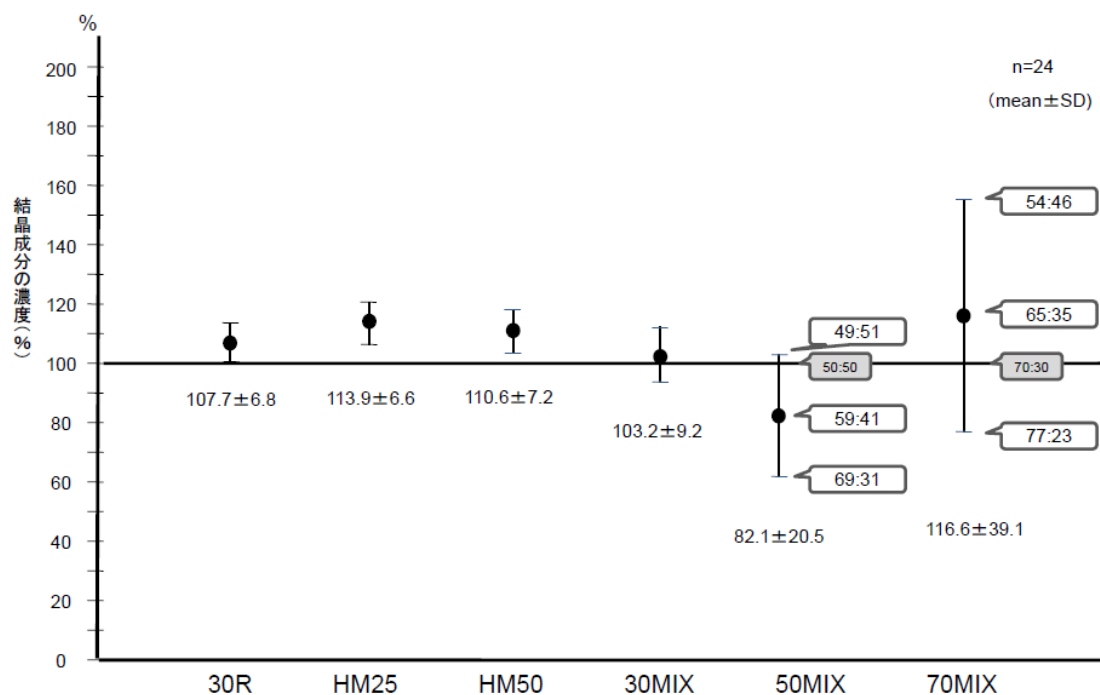



Fig.3 製剤別結晶成分濃度

②製剤の混ざりやすさの研究（Table4）

Table4 結果

保管温度	2～8℃									20～24℃								
製剤名	1回目混和後の結晶濃度（%）	2回目混和後の結晶濃度（%）	目視判定 1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	点数		1回目混和後の結晶濃度（%）	2回目混和後の結晶濃度（%）	目視判定 1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	点数	
30R	118.519	127.019	○	○				5	30	107.407	113.175	○	○				5	30
	119.308	125.319	○	○				5		114.268	114.876	○	○				5	
	117.790	125.440	○	○				5		117.243	127.322	○	○				5	
	117.061	126.594	○	○				5		127.080	121.797	○	○				5	
	120.097	129.326	○	○				5		122.040	117.304	○	○				5	
	115.847	133.212	○	○				5		127.140	129.447	○	○				5	
HM25	119.676	116.332	○	○				5	24	104.383	101.721	○	○				5	30
	100.359	118.561	△	○				4		102.278	105.684	○	○				5	
	129.520	129.767	△	○				4		118.252	119.180	○	○				5	
	80.300	109.894	△	△	○			3		127.043	127.291	○	○				5	
	123.452	129.829	△	○				4		119.490	116.270	○	○				5	
	120.109	132.244	△	○				4		116.890	118.375	○	○				5	
HM50	94.096	91.999	○	○				5	28	94.686	90.361	○	○				5	30
	97.176	91.999	○	○				5		89.575	88.330	○	○				5	
	96.193	95.407	△	○				4		86.823	92.196	○	○				5	
	81.580	95.865	△	○				4		88.723	87.937	○	○				5	
	98.814	95.538	○	○				5		87.871	89.051	○	○				5	
	89.116	94.227	○	○				5		89.640	87.216	○	○				5	
30MIX	84.534	95.802	○	○				5	26	103.294	103.981	○	○				5	29
	50.561	113.361	△	○				4		100.835	97.804	○	○				5	
	50.561	112.617	△	○				4		117.021	103.066	○	○				5	
	58.682	101.579	△	○				4		101.293	96.259	○	○				5	
	57.481	103.981	△	○				4		85.564	98.662	△	○				4	
	98.318	113.647	○	○				5		100.835	102.894	○	○				5	
50MIX	92.042	100.396	○	○				5	22	95.794	91.617	△	○				4	25
	12.036	88.148	△	○				4		90.343	91.405	△	○				4	
	45.101	76.395	△	△	○			3		123.832	104.857	△	○				4	
	81.847	101.954	△	△	△	○		2		90.626	88.997	△	○				4	
	62.305	93.600	△	○				4		94.803	96.078	○	○				5	
	98.485	96.998	△	○				4		90.343	93.883	△	○				4	
70MIX	135.614	145.088	×	△	△	○		2	19	160.000	160.702	△	○				4	22
	145.789	151.754	△	○				4		138.596	143.684	△	△	○			3	
	76.842	132.456	×	△	○			3		115.439	110.877	△	△	○			3	
	101.579	125.965	×	○				4		131.053	127.895	△	△	○			3	
	65.789	117.193	×	△	○			3		126.316	126.842	○	○				5	
	103.860	136.842	×	△	○			3		138.947	137.368	△	○				4	

a. 目視による判定

ⅰ)30R

保管温度に関わらず，混和 1 回目で全て「塊なし」となった．

ⅱ)HM25

20～24℃に保管したものは混和 1 回目で全て「塊なし」となったが，2～8℃に保管したものは， 5 本が 1 回の混和では塊が残っており，うち 4 本が 2 回目の混和で，1 本が 3 回目の混和で「塊なし」となった．

ⅲ)HM50

20～24℃に保管したものは混和 1 回目から全て「塊なし」となったが，2～8℃に保管したものは， 2 本が 1 回の混和では塊が残っており，2 回目の混和で「塊なし」となった．

ⅳ)30MIX

20～24℃に保管したものは， 1 本が混和 1 回目後も塊が残っており，2 回目の混和で「塊なし」になったのに対し，2～8℃に保管したものは，4 本が 1 回目の混和後に塊が残っていたが，2 回目の混和で全て「塊なし」となった．

ⅴ)50MIX

保管温度に関わらず， 5 本が 1 回目の混和後に塊が残っていた．20～24℃に保管したものは，全てが 2 回目の混和で「塊なし」となったが，2～8℃に保管したものは，3 回あるいは 4 回混和して「塊なし」となったものがそれぞれ 1 本ずつあった．

ⅵ)70MIX

20～24℃に保管したものは，2 回目の混和で「塊なし」となったものが 2 本，3 回目の混和で「塊なし」となったものが 3 本あった．一方，2～8℃に保管したものは，1 回目の混和で「塊なし」になったものは 1 本もなく，3 回混和して「塊なし」となったものが 3 本，4 回混和して「塊なし」となったものが 1 本であった．

ⅶ)目視評価点数

30R は 2～8℃，20～24℃とも 30 点であったが，30R 以外いずれの製剤も 20～24℃より 2～8℃の方が点数が低かった．また，2～8℃では 30R＞HM50＞30MIX＞HM25＞50MIX＞70MIX の順で点数が高く，20～24℃では 30R，HM25，HM50 は 30 点であり，30MIX＞50MIX＞70MIX の順に点数が高かった．

b. 濁度結果（Fig.4, Fig.5）

ⅰ)30R

2～8℃に保管した場合は，1 回目混和後が 118.1±1.4％（mean±SD），2 回目混和後が 127.8±2.8％であり，2 回目混和後の方が若干高く，ばらつきも若干大きかった．

20～24℃に保管した場合は，1 回目混和後が 119.2±7.1％，2 回目混和後が 120.7±6.1％と，両者の間でほぼ変化はなかった．

2～8℃保管の場合と 20～24℃保管の場合を比べてもほとんど差はなかったが，いずれも適正濃度より高い結果となった．

ⅱ)HM25

2～8℃に保管した場合は，1 回目混和後が 112.2±16.8％，2 回目混和後が 122.8±8.3％と，1 回目混和後の方が明らかにばらつきが大きかった．

20～24℃に保管した場合では平均値，ばらつきとも変化はなかった．

2～8℃保管の場合と20～24℃保管の場合を比べると，2～8℃保管の1回目混和後のばらつきが大きかったが，その他はほとんど差はなかった．また，いずれの場合も平均値が高い傾向にあった．

ⅲ)HM50

2～8℃に保管した場合は，1 回目混和後が 92.8±5.9％，2 回目混和後が 94.2±1.6％と，1 回目混和後の方がばらつきが大きかった．

20～24℃に保管した場合では平均値，ばらつきともほとんど差はなかった．

2～8℃保管の場合と20～24℃保管の場合を比べると，2～8℃保管の1回目混和後のばらつきが他と比べて若干大きかったが，その他はほとんど差はなかった．

ⅳ)30MIX

2～8℃に保管した場合は，1 回目混和後が 66.7±18.2％，2 回目混和後が 106.8±6.8％と，1 回目の方が適正濃度よりも低く，ばらつきも大きかった．

20～24℃に保管した場合は，1 回目混和後が 101.5±9.1％，2 回目混和後が 100.4±3.0％と 1 回目混和後の方がばらつきが大きかった．

いずれの場合も 1 回目混和後の方がばらつきが大きかったが，20～24℃に保管した場合よりも 2～8℃に保管した場合の方がばらつきが大きかった．

ⅴ)50MIX

2～8℃に保管した場合は，1回目混和後が 65.3±29.8％，2回目混和後が 92.9±8.7％であり，1 回目混和後の方が平均も低く，ばらつきも非常に大きかった．

20～24℃に保管した場合は，1 回目混和後が 97.6±11.9％，2 回目混和後が

94.5±5.1％であり，1 回目混和後の方がばらつきが大きかった.

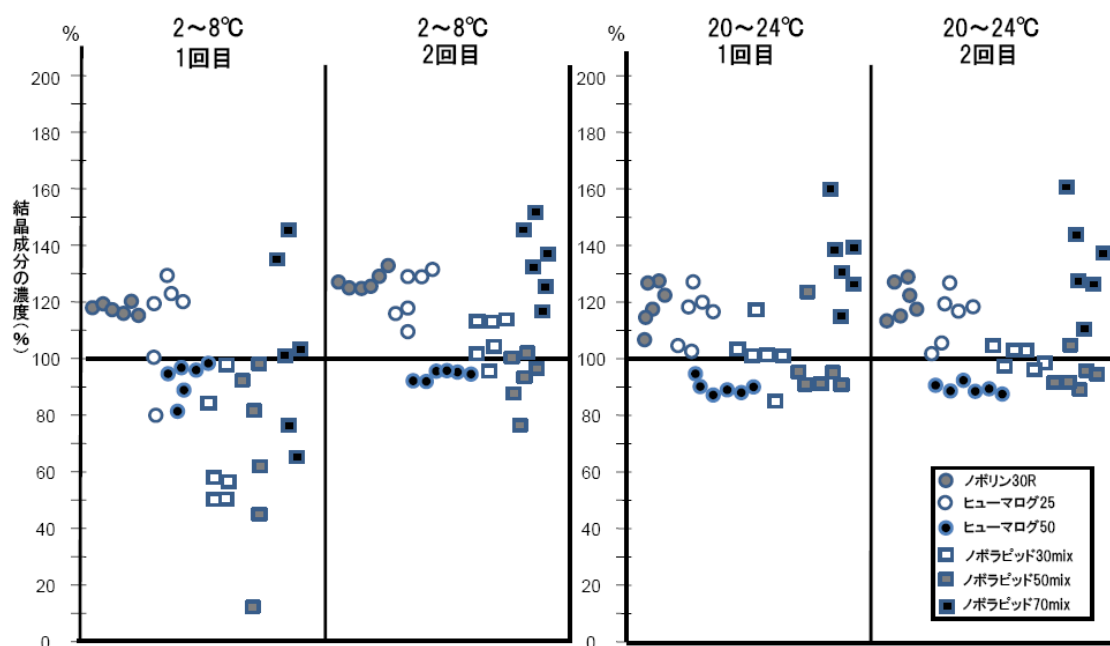



Fig.4 結晶成分濃度

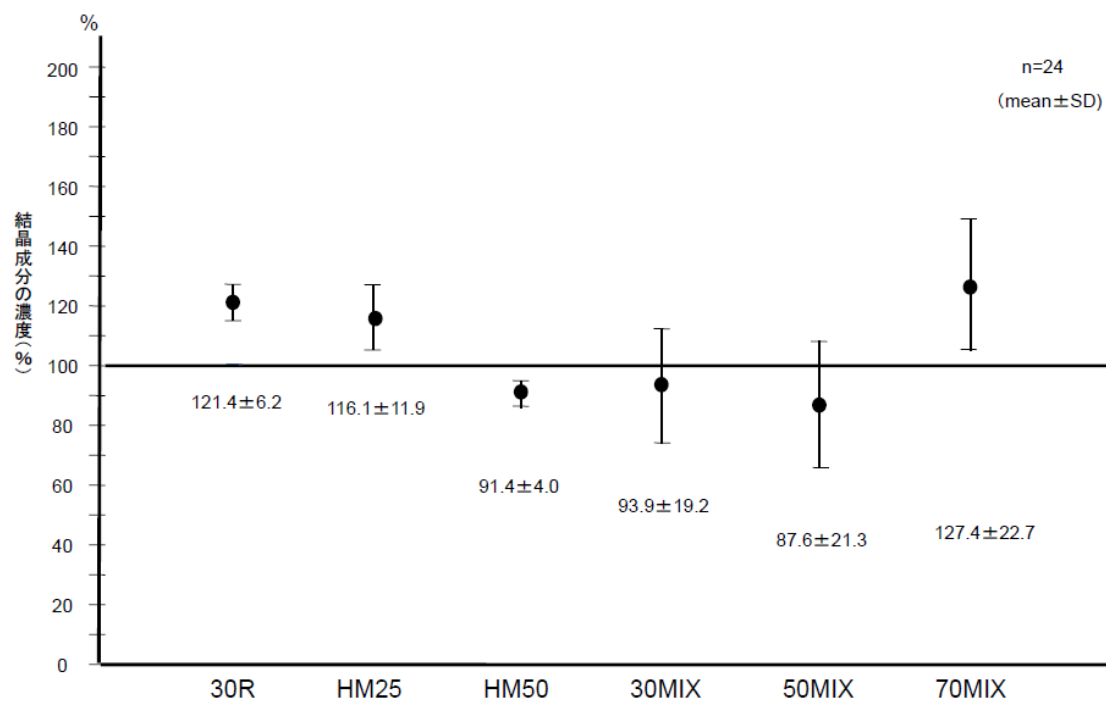



Fig.5 製剤別結晶成分濃度

2～8℃保管の場合と20～24℃保管の場合を比べると，2～8℃保管の１回目混和後が非常にばらつきが大きかった．またいずれの場合も低値の傾向にあった．

ⅵ)70MIX

2～8℃に保管した場合は，1 回目混和後が 104.9±28.7%，2 回目混和後が 134.9±11.5%と，平均は 2 回目混和後の方が高値となったが，ばらつきは 1 回目混和後の方が非常に大きかった．

20～24℃に保管した場合は，1 回目混和後が 135.1±13.7%，2 回目混和後が 134.6±15.5%とほとんど差はなかったが，いずれも平均値は高く，ばらつきも大きかった．

2～8℃保管の場合と20～24℃保管の場合を比べると，2～8℃保管の１回目混和後が最もばらつきが大きかったが，いずれの場合も平均値は高く，ばらつきも大きかった．

ⅶ)結晶成分濃度の比較

保管温度，混和回数別では，2～8℃保管の１回目混和後が最もばらつきが大きかったが，その他のものは大きな差はなかった．

保管温度と混和回数にかかわらず，製剤別の結晶濃度を求めたところ，30R は 121.4±6.2%，HM25 は 116.1±11.9%，HM50 は 91.4±4.0%，30MIX は 93.8±19.2%，50MIX は 87.6±21.3%，70MIX は 127.4±22.7%となり，30MIX，50MIX，70MIX のばらつきが大きかった．

3)考察

添付文書や患者向けパンフレットに記載されている各製剤の混和法は，混合型ヒトインスリン製剤は T[8]，二相性インスリンアナログ製剤は初回が R-T1 で 2 回目以降は T[9]，インスリンアナログ混合製剤は R-T2[10]となっている．このように，懸濁製剤では均一なインスリン濃度を保つために混和法を詳しく規定している．本研究でも Peter ら[3]と同様に混和と結晶濃度の関係を調べたところ結晶濃度が 25.6～170.7%となった．特に 50MIX は結晶濃度が 82.1±20.5%で，低比率の 62%のときの超速効型画分と中間型画分の割合は 69:31 となる．これは 50MIX を使用しているにもかかわらず 70MIX 相当の製剤を使用していることになる．70MIXも同様に結晶濃度が 116.6±39.1%で，高比率の 155%のときの割合が 54:46 となる．すなわち，この比率では 50MIX 相当になる．このことから，懸濁製剤を使用する際には完全に懸濁することが必要であると再確認できた．また，

NPH製剤を用いた朝倉ら[11)]の調査で，混和後2.5分前後で沈殿し始めたことから，初回だけでなく2回目以降も（毎回）十分に混和しなければならない．

インスリン製剤の保管は「未使用時は凍結を避けて2～8℃に遮光保存．使用中は冷蔵庫に保存しないこと」と規定されているが，姿勢に関する規定はない．臨床調査では使用中も冷蔵庫で保管している患者がいるという報告がある[4)]．本研究におけるアンケート調査でも同様の患者がおり，規定がない保管姿勢ではさまざまな状況が考えられる．本結果では「20～24℃」，「垂直」，「R-T1」が混ざりやすかった．しかし，保管条件と混和法を組み合わせると，「20～24℃・水平・R-T1」が1回目の混和で「塊なし」となり，結晶濃度も100％に近かった．したがって，温度は冬期や初回使用時などインスリン製剤が冷たくなっている場合はカートリッジ部分を握るなどして温めるよう指導し，保管姿勢は水平でも垂直でもどちらでもよく，背広などのポケットにインスリン製剤を入れて持ち歩いても問題ないと言える．しかし，未使用時の二相性インスリンアナログ製剤は水平保管しなければならず，前述の通り「20～24℃・水平・R-T1」の組み合わせが最も良い成績であったのでこれを推奨する．しかし，これらの条件で常に確実な混和が確保されるということではないので，患者に「混和の必要性を理解してもらうこと」と，「単に10回振るのではなく結晶の塊がなくなるまで混和すること」を指導する必要がある．

製剤の比較では，50MIXと70MIXは混ざりにくく，結晶濃度が100％から大きくずれてばらつきも大きかった．特に，最も成績の良かった「20～24℃・水平・R-T1」でも，70MIXだけは混ざりにくかった．製剤の混ざりやすさの研究においても，30MIX，50MIX，70MIXが混ざりにくく，それぞれ93.9±19.2％，87.6±21.2％，127.4±22.7％とばらつきも大きかった．したがって，50MIXと70MIXは特に注意して指導しなければならない．混和回数の検討では，70MIXは目視評価点数が最高でも8点であり，平均2回の混和が必要であると考えられる．また，他の製剤が全て10点であった「20～24℃・水平・R-T1」でも70MIXは4点であり，平均4回の混和が必要であるため一律に混和回数を増やす指導も有用であると考えられる．製剤の混ざりやすさの研究においても，2～8℃保管の場合は19点，20～24℃保管の場合でも22点であり，平均3.67回の混和が必要である．懸濁の必要性を理解していても高齢者など視力が低下している患者では，塊の有無を確認できない場合ある．Peterら[3)]はNPH製剤を完全に再懸濁するには少なくとも20回上下転倒すること，平田[2)]はtipping（上下転倒）とtapping（こつこつとたたく）を並用することを推奨している．さらに，ヒューマカートを用いた実験でも規定以上の条

件によって懸濁が均一化したことの報告[12]や．朝倉ら[13]は，混和操作の指導における「有色ガラス玉」の有用性について報告しており，混和法や混和の指導に関してさまざまな提案がある．

本研究から，「使用中の懸濁製剤は低温保管は避ける．冷たい場合は手のひらで温めて混和する．混和はR-T1（インスリン製剤を手のひらで水平に回転（10回/5秒）させた後，上下に往復（10回/10秒）させる）を用い，1セットごとにカートリッジを光にかざして結晶の塊の有無を確認しながら2セット以上（結晶の塊がなくなるまで）混和する」ことが必要と考える．

4)小括

目視判定，濁度測定ともに保管姿勢による違いはほとんど認められなかったが，保管温度と混和法に関しては「20～24℃」「R-T1」が最も混ざりやすかった．製剤間の混ざりやすさの違いについては，特に50MIXと70MIXが混ざりにくく，70MIXでは平均4回の混和が必要であった．この結果から，「使用中の懸濁製剤は低温保管は避け，冷たい場合は手のひらで温めて混和すること，混和はR-T1を用い，1セットごとにカートリッジを光にかざして結晶の塊の有無を確認しながら2セット以上（結晶の塊がなくなるまで）混和する」ことが必要と考える．

(2)臨床における患者へのアンケート調査

懸濁製剤は，前述の通り濃度を均一にする必要がある．しかし，製剤ごとに混和法が異なることで臨床現場に混乱が生じていることが考えられる．
そこで，臨床における懸濁製剤の保管および混和に関する現状を把握するためにアンケートによる実態調査を行った．

1)対象および方法

①対象

新潟中央病院（新潟県），厚生連魚沼病院（新潟県）に外来受診または入院中，もしくはフローラ調剤薬局河和田店（茨城県），調剤薬局ミッテル開成店（福島県）来局患者のうち，30R，30MIX，50MIX，70MIX，HM25，HM50のいずれかを1カ月以上使用している10歳以上の糖尿病患者で，本調査に同意を得た162名を対象とした．なお，対象患者の糖尿病の病型は問わなかった．

②方法

Fig.6のアンケート用紙を用いて，患者本人に記入してもらった．

―アンケートご協力のお願い―

このアンケートはインスリンの使用方法についてお聞きしています。

取得したアンケート結果につきましては、論文や学会への発表に使用させていただきます。氏名等の個人情報につきましては、一切公表いたしません。

以上のことに同意していただける場合は、ご署名の上アンケートにご協力くださいますよう、お願いいたします。

ご署名欄＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿

あてはまるものに○を付けてください。

1. 年齢
 a. 10～20 歳代　b. 30～40 歳代　c. 50～60 歳代　d. 70 歳代以上

2. 性別
 a. 男性　b. 女性

3. 糖尿病と診断されて何年経ちますか。
（　　　　　）年

4. インスリン自己注射を始めてどのくらい経ちますか。
 a. 1 ヶ月以上 3 ヶ月未満
 b. 3 ヶ月以上 6 ヶ月未満
 c. 6 ヶ月以上 1 年未満
 d. 1 年以上 3 年未満
 e. 3 年以上

5. 手や指に障害をお持ちですか。
 a. はい
 b. いいえ

6. 新聞の文字は読めますか。
 a. はい
 b. いいえ

7. 現在使用しているインスリン製剤は何ですか。
 a. ノボリン 30R 注フレックスペン
 b. ノボラピッド 30 ミックス注フレックスペン
 c. ノボラピッド 50 ミックス注フレックスペン
 d. ノボラピッド 70 ミックス注フレックスペン
 e. ヒューマログミックス 25 注ミリオペン
 f. ヒューマログミックス 50 注ミリオペン

8. インスリン製剤の中にガラス球が入っていることを知っていましたか。
 a. 知っていた
 b. 知らなかった

9. インスリンを注射する前に、混和する必要があることを知っていましたか。
 a. 知っていた
 b. 知らなかった

10. インスリン注射を行う前に混和していますか。
 a. 毎回混和している
 b. 混和しないこともある
 c. 全く混和しない

11. （10 で「a.毎回混和している」または「b.混和しないこともある」の方）混和の際、困ったことはありますか。
 a. ない
 b. ある（具体的な内容：　　　　　）

12. （10 で「a.毎回混和している」または「b.混和しないこともある」の方）普段、どのように混和していますか。
 a. 手のひらで水平に転がした後、上下に振る
 水平に往復(　　)回 ⇒ 上下に往復(　　)回
 b. 手のひらで垂直に転がした後、上下に振る
 垂直に往復(　　)回 ⇒ 上下に往復(　　)回
 c. 上下に振る
 上下に往復(　　)回
 d. その他（　　　　　）

13. （10 で「a.毎回混和している」または「b.混和しないこともある」の方）混和後、塊(かたまり)が残っていないか確認していますか。
 a. 確認している
 b. 確認していない

14. （13 で「a.確認している」の方）普段、どのように確認していますか。
 a. 電気などの光にかざして確認する
 b. 光にはかざさず、手元で確認する

15. （13 で「a.確認している」の方）混和後確認して、塊(かたまり)が残っていたことはありますか。
 a. ある
 b. ない

16. （13 で「a.確認している」の方）混和後確認して、混和が不十分と感じ、再度混和操作を行ったことはありますか。
 a. ある
 b. ない

17. 使用中のインスリンはどこに保管していますか。具体的に記入してください。
（　　　　　）

18. インスリンを保管するとき、どのような姿勢で保管していますか。
 a. 常に、水平に(寝かせて)保管している
 b. 常に、垂直に(立てて)保管している
 c. どちらかといえば、水平に(寝かせて)保管していることが多い
 d. どちらかといえば、垂直に(立てて)保管していることが多い
 e. 特に気にしていないので、わからない

19. その他、インスリン製剤の混和に関してご意見がありましたら記入をお願いいたします。

ご協力ありがとうございました。

Fig.6 アンケート項目

2)結果（Table5）

混和に関しては，注射を行う前に混和する必要性があることを 155 名（95.7%）が知っており，158 名（97.5%）が毎回混和していると回答していた．しかし，規定あるいは推奨されている方法（30R：T を含む方法，HM25・HM50：R-T2，30MIX・50MIX・70MIX：R-T1 もしくは T）で混和し，回数も 10 回以上行っている患者は 35 名(21.6%)であった．中には，「ひねるように振る」「手に 2～3 回打ちつけた後，上下に 2～3 回振る」といった自己流の方法で混和している患者もいた．

混和後に塊の有無を確認している患者は 124 名（76.5%）であったが，そのうち 97 名（78.2%）は光にかざさずに確認していた．

また，保管に関しては 25 名（15.4%）が使用中のインスリンを冷蔵庫や車の中など規定とは異なった不適切な場所で保管していた．中には，未使用時のインスリンを常温保管し，使用中のインスリンを冷蔵庫で保管している患者もいた．

3)考察

本アンケート調査において，混和法，混和回数とも規定通りに行っている患者は 21.5%のみであり，中には「ひねるように振る」「手に 2～3 回打ちつけた後，上下に 2～3 回振

アンケート項目		人	%	備考
1. 年齢	a. 10～20歳代	2	1.235	
	b. 30～40歳代	19	11.728	
	c. 50～60歳代	85	52.469	
	d. 70歳代以上	54	33.333	
	不明	2	1.235	
2. 性別	a. 男性	87	53.704	
	b.. 女性	75	46.296	
4. 自己注射期間	a. 1ヶ月以上3ヶ月未満	7	4.321	
	b. 3ヶ月以上6ヶ月未満	7	4.321	
	c. 6ヶ月以上1年未満	14	8.642	
	d. 1年以上3年未満	33	20.370	
	e. 3年以上	101	62.346	
5. 手指障害	a. 有り	19	11.728	
	b. 無し	141	87.037	
	不明	2	1.235	
6. 新聞の文字	a. 読める	148	91.358	
	b. 読めない	11	6.790	
	不明	3	1.852	
7. 使用インスリン製剤	a. 30R	20		(複数回答あり)
	b. 30MIX	81		
	c. 50MIX	21		
	d. 70MIX	13		
	e. HM25	10		
	f. HM50	23		
	不明	5		
8. ガラス球の存在	a. 知っていた	53	32.716	
	b. 知らなかった	109	67.284	
9. 混和の必要性	a. 知っていた	155	95.679	
	b. 知らなかった	7	4.321	
10. 混和	a. 毎回している	158	97.531	
	b. 混和しないこともある	3	1.852	
	c. 全くしない	1	0.617	
11. 混和の際困ったこと	a. ない	153	94.444	
	b. ある	5	3.086	・開封後初回は混和しづらい。(70MIX使用) ・すぐに注射できないこと(70MIX使用) ・進みにくいことがあった(使用インスリン不明) ・冷蔵庫の中に長く入れていた注射液は、混ざりにくい時もありました。(30MIX使用) ・冷蔵庫から出した直後や使い始めに混和しにくいと感じる。(30MIX使用)
	不明	4	2.469	
12. 混和方法	混和方法・回数ともに正しい	35	21.605	
	混和方法は正しいが回数誤り	55	33.951	複数回答あり。
	混和方法・回数ともに誤り	69	42.593	複数回答中、誤りの混和法が入っていれば理解していないとみなし、混和法誤りに数える。
	不明	3	1.852	
13. 目視確認	a. 確認している	124	76.543	
	b. 確認していない	35	21.605	
	不明	3	1.852	
14. 確認方法	a. 光にかざして確認	26	20.968	
	b. 光にかざさず手元で確認	97	78.226	
	不明	1	0.806	
15. 塊の有無	a. 有り	25	20.161	
	b. 無し	98	79.032	
	不明	1	0.806	
16. 再混和	a. 有り	49	39.516	
	b. 無し	73	58.871	
	不明	2	1.613	
17. 使用中の保管場所	冷蔵庫、冷暗所、車の中	25	15.432	
	不明	6	3.704	
18. 保管姿勢	a. 常に水平保管	119		
	b. 常に垂直保管	17		
	c. どちらかといえば水平保管	17		
	d. どちらかといえば垂直保管	5		
	e. わからない	5		
	不明	2		
19. その他意見	使用中は居室の戸棚、未使用のインスリンの保管は冷蔵庫に入れておきます。適切かどうかご指導お願い致します。			
	残量どれくらいまで使用しても良いものなのか。空打ちをするが、同単位でもインスリンが勢いよく出るときとそうでない時があり、少し不安。			
	混和に針先を他の物にぶつけてしまって使用できない時がある。			
	泡がぬけにくい。			
	針を抜いた時、滴が少しある。			
	1種類にしてください。			
	ダイアル設定後、注入の際押す時、進みにくいことがある。			
	特にないが、混和させないタイプのインスリンもあるようなので、混和させるタイプは多少面倒かなと思う。			

Table5 アンケート結果

る」「真ん中をつかんで上下に振る」など自己流の方法で混和している患者もいた. また, 本調査では混和後に塊が残っていたことがある患者が 25 名(20.2%)であったが, 混和後の確認の際に光にかざして塊の有無を確認している患者が全体の 16%であったこと

から，実は混和不足で塊が残っていたにもかかわらず，それを確認できずに注射をしていた患者がいる可能性が考えられる．これは，製剤毎あるいは初回か 2 回目以降の使用かによって規定されている混和法が異なっていることにより，臨床現場で混乱が生じていることが原因の一つとして考えられる．そのため，懸濁インスリン製剤の混和法は製剤の種類や使用回数にかかわらず統一することが懸濁インスリン製剤の適正使用に有用であると考える．

　また，使用中のインスリンを冷蔵庫や車の中など規定とは異なった不適な場所で保管している患者がいたことから，インスリンが変性したり防腐剤による殺菌がなされず，有効性や安全性が保たれていないことが考えられる．

そのため，医療従事者は患者が手技を覚えるまでではなく，その後も手技や保管などが正しく行えているか確認し，行えていない患者に対しては再指導を行う必要性があると考える．

4)小括

　本アンケート結果より，適正な混和や保管が行えていない実態がわかった．そこで，この問題を解消するために，製剤の種類にかかわらず混和法を統一することが有用であると考える．また，手技や保管法について適正に行えているか定期的に確認を行い，できていない患者に対しては再指導を行う必要があると考える．

3．インスリン製剤とリラグルチド製剤の保存剤の効果

　日本薬局方 [14]の製剤総則では，注射剤について「本剤及び添付された溶解液などは，別に規定するもののほか，無菌試験法に適合する」と規定されているため，注射剤は無菌でなければならない．しかし，インスリン自己注射においては，保護シールがはがれている針を使用する，針を取り付ける前にゴム栓の消毒をしない，針を取り付ける際にゴム栓や針に手が触れる，針を取り付けてから長時間放置する，針を再使用する，注射部位を消毒しない，カートリッジ内への血液混入，キャップをつけずに保管するなど，無菌状態を保てなくなるさまざまな事柄が考えられる．実際，逆血など針を通して外部から内部に異物が混入することが報告 [15][16]されている．

　現在臨床使用されているインスリン製剤には，全て抗菌保存剤として 0.15～0.315％の m-クレゾールが含まれている．しかし，2010 年 6 月に発売されたヒト GLP-1 アナログ注射液（リラグルチド，ビクトーザ®皮下注 18mg，ノボ ノルディスク ファーマ（株）；以下，Vic）には m-クレゾールではなく 0.55％のフェノールが含まれている．

そこで，超速効型インスリンアナログ注射液のノボラピッド®注フレックスペン®（ノボ ノルディスク ファーマ（株）；以下，NR）とVic を用いて，常在菌に対する殺菌効果の比較を行い，同時に適切な保管温度についての検討を行った．

1）試料および方法

（1）試料

①使用菌株

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*（MRSA）

Staphylococcus epidermidis（S.e.）

Escherichia coli（E.c.）

Pseudomonas aeruginosa（P.a.）

Candida albicans（C.a.）

②使用薬剤

Vic（Lot.YP50298）

NR（Lot.YH70384）

（2）方法

C.a 以外の一般細菌はハートインフュージョンブイヨン培地（以下，HIB）で，真菌のC.a はグルコースを 4％添加した HIB（以下，Glu-HIB）で 24 時間以上培養した．培養後，菌液を遠心分離（5000rpm/5mim）し，生理食塩水で洗浄した．この遠心分離と洗浄を 2 回行った後，一般細菌は McFarland 比濁法の No.1 濃度に，カンジダは菌体が大きいため No.1.5 濃度に調整した．調整した菌液 10μL を 96 穴マルチプレート（以下，プレート）に入れ，そこに薬剤 190μL を入れて混合し，4℃と 25℃で保管した．菌液と薬剤を混合し，1 時間後，3 時間後，6 時間後，24 時間後，1 週間後，2 週間後，4 週間後に，混合液を 20μL 採取し，予めポリソルベート 80（Tween80）を 1％添加した HIB（以下，中和剤）を 180μL ずつ入れておいたプレート（以下，中和用プレート）に入れて混和した．さらにこの液を 20μL 採取し，予め HIB（C.a.は Glu-HIB）を 180μL ずつ入れておいたプレート（以下，確認用プレート）に入れて混和し，35℃のインキュベーターに入れて 24 時間培養し，菌の生死を判定した．

各菌の間に時間差が生じないように，菌液の採取およびインスリン製剤との混和，中和剤，液体培地への注入には，全て 8 もしくは 12 連マルチピペットを用いた．なお本実験は，各温度とも 3 回行って誤差を補正した．

2)結果(Table6)

(1)4℃に保管した場合

NR と混合した菌は, いずれも 6 時間後まで生存していた. そして 24 時間後には全ての P.a.および C.a.が死滅しており, 1 週間後には全ての菌が死滅していた.

Vic と混合した菌は, いずれも 3 時間後まで生存していた. そして 6 時間後には P.a.が全て死滅しており, 1 週間後には全ての菌が死滅していた.

(2)25℃に保管した場合

NR と混合した菌は, 1 時間後は全ての菌が生きていたが, 3 時間後には全ての P.a.が死滅しており, 6 時間後には C.a.が全て死滅していた. そして 24 時間後には 1 つの MRSA 以外の全ての菌が死滅しており, 1 週間後には唯一生存していた MRSA も死滅していた.

Vic と混合した菌は, 1 時間後には全ての P.a.が死滅しており, 3 時間後には E.c.も全て死滅していた. そして 24 時間後には全ての菌が死滅していた.

3)考察

注射剤は無菌でなければならないにもかかわらず, 現在使用されている注入器は 1 本のカートリッジ内のインスリンを複数回に分けて使うため, 外部からの異物混入が問題となり, 実際, 針を通してカートリッジの外部から内部に異物が混入することが報告[15)16)]されてい

Table6 殺菌実験結果

ノボラピッド	C	4℃-1h後			4℃-3h後			4℃-6h後			4℃-24h後			4℃-1w後			4℃-2w後			4℃-4w後		
		H	E	B	H	E	B	H	E	B	H	E	B	H	E	B	H	E	B	H	E	B
MRSA	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	×	×	−	−	−	−	−	−
S.epidermidis	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	×	×	−	−	−	−	−	−
E.coli	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	×	×	−	−	−	−	−	−
P.aeruginosa	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	×	×	×	×	×	−	−	−	−	−	−
C.albicans	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	×	×	×	×	×	−	−	−	−	−	−

ビクトーザ	C	4℃-1h後			4℃-3h後			4℃-6h後			4℃-24h後			4℃-1w後			4℃-2w後			4℃-4w後		
		H	E	B	H	E	B	H	E	B	H	E	B	H	E	B	H	E	B	H	E	B
MRSA	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	×	×	−	−	−	−	−	−
S.epidermidis	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	×	×	−	−	−	−	−	−
E.coli	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	×	×	−	−	−	−	−	−
P.aeruginosa	○	○	○	○	○	○	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	−	−	−	−	−	−
C.albicans	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	×	×	−	−	−	−	−	−

ノボラピッド	C	25℃-1h後			25℃-3h後			25℃-6h後			25℃-24h後			25℃-1w後			25℃-2w後			25℃-4w後		
		H	E	B	H	E	B	H	E	B	H	E	B	H	E	B	H	E	B	H	E	B
MRSA	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	×	○	×	×	×	−	−	−	−	−	−
S.epidermidis	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	×	×	×	×	×	−	−	−	−	−	−
E.coli	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	×	×	×	×	×	−	−	−	−	−	−
P.aeruginosa	○	○	○	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	−	−	−	−	−	−
C.albicans	○	○	○	○	○	○	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	−	−	−	−	−	−

ビクトーザ	C	25℃-1h後			25℃-3h後			25℃-6h後			25℃-24h後			25℃-1w後			25℃-2w後			25℃-4w後		
		H	E	B	H	E	B	H	E	B	H	E	B	H	E	B	H	E	B	H	E	B
MRSA	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	×	×	×	×	×	−	−	−	−	−	−
S.epidermidis	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	×	×	×	×	×	−	−	−	−	−	−
E.coli	○	○	○	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	−	−	−	−	−	−
P.aeruginosa	○	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	−	−	−	−	−	−
C.albicans	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	×	×	×	×	×	−	−	−	−	−	−

る. また, インスリン自己注射患者の使用済みバイアル 160 バイアル中 5 バイアル(3.1%)から C.a., *Bacillus subtilis, Stapylococcus sapropliyticus,* S.e.が検出されたとの報告[17]や, 2.9%のインスリン自己注射患者の使用済みバイアルから S.e., *Propionibacterium acnes* 等の細菌汚染が検出されたとの報告[18]もある.

津島[17]らが行った, パラオキシ安息香酸メチル, クレゾール, フェノールをそれぞれ保存剤とするインスリン製剤を用いた菌生存の実験では, *Bacillus subtilis* および S.e. はパラオキシ安息香酸メチルを含有する製剤よりもクレゾールやフェノールを含有する製剤の方が菌生存率が低く, クレゾールとフェノール含有製剤間の菌生存率に差は見られなかったが, C.a.はフェノールよりもクレゾールを含有する製剤の方が菌生存率が低かった. さらに, m-クレゾールおよび液状フェノール含有製剤のバイアル内では 4℃保存で C.a. が 57.3%生存し,クレゾール含有製剤のバイアル内では同温度保存で同菌が 42.7%生存していたとの報告[19]もある.

2010 年に発売された Vic はインスリン同様注射剤であるが, 現在臨床使用されているインスリンと異なり保存剤として m-クレゾールは含まれておらず, 0.55%のフェノールのみが含まれている. そこで, m-クレゾールが含有されている製剤と Vic を用いて常在菌に対する殺菌効果の比較を行った.

本試験の結果より, 同じ保管温度における殺菌効果については製剤間でほとんど差はなかったが, 4℃と 25℃では 25℃で保管した方が高い殺菌効果を示した.
保存剤として m-クレゾールのみを含むバイエッタ®と本研究と同種の菌を用いた柄沢[20]の研究でも本研究とほぼ同様の結果が出ており, 保存剤がフェノールのみ, m-クレゾールのみ, フェノールおよび m-クレゾールにかかわらず同様の殺菌効果を示すこと, いずれも温度が高いほど保存剤の殺菌効果が高いことがわかった. この, 温度と殺菌効果の関係については, これまでにも同様に高温ほど高い殺菌効果を示すという報告[17][19][21]がある. しかし, 幸野ら[21]が行った実験から, 芽胞を作るセレウス菌はどの温度でも最後まで生存していた.

以上のことからも, 使用中のインスリン製剤およびリラグルチド製剤は規定通り室温で保管しなければならず, 少しでも薬液と菌が接触しないように, ゴム栓の消毒や注射部位の消毒を行うことも必要であるといえる.

本研究で行ったアンケート調査でも, 15.3%の患者が冷蔵庫あるいは車の中という不適切な場所で保管していることからも, 患者が手技を覚えるまでではなく, その後も手技

や保管などが正しく行えているか確認し，行えていない患者に対しては再指導を行う必要性があると考える．

4）小括

インスリン製剤とリラグルチド製剤では含まれている保存剤の種類が異なるが，本研究の結果，保存剤の種類による殺菌効果には違いがないことがわかった．しかしいずれも殺菌効果に保管温度が大きく影響しており，殺菌効果を高めるためには規定通り冷蔵庫で保管するのではなく室温で保管することが必要であることがわかった．また，少しでもカートリッジ内の薬液と細菌との接触を避けるためにはゴム栓や注射部位の消毒も必要である．

医療従事者は患者が手技を覚えるまでではなく，その後も手技や保管などが正しく行えているか確認し，行えていない患者に対しては再指導を行う必要性があると考える．

4．総括

懸濁製剤を適正に使用するためには，その製剤の濃度が均一になるように十分に混和することが必要である．混和法はメーカーごとに定められているが，実際には規定あるいは推奨されている通りに行っていない患者がほとんどであった．そこで，本研究の結果からもメーカーごとに混和法を変える必要性はなく，患者が十分に混和し適正に懸濁製剤が使用されるためには混和法を統一化させることが有用であると考えた．

また，注入器への細菌の混入は避けられないことから，少しでも薬液と細菌との接触を避けるためにゴム栓や注射部位の消毒が必要であり，混入した細菌に対して保存剤の効果を高めるために，使用中のインスリン製剤およびリラグルチド製剤は，規定通り室温で保管する必要があることがわかった．

結論として，「使用中の懸濁製剤は低温保管は避け，冷たい場合は手のひらで温めて混和する．混和はR-T1（インスリン製剤を手のひらで水平に回転（10回/5秒）させた後，上下に往復（10回/10秒）させる）を用い，1セットごとにカートリッジを光にかざして結晶の塊の有無を確認しながら2セット以上（結晶の塊がなくなるまで）混和する」ことが必要であり，さらにそれを継続して徹底させるためにも，医療従事者は手技や保管について定期的に確認と再指導を行うことが必要であると考える．

なお，本研究は下記において発表を行った．

1）第40回新潟糖尿病談話会

2)第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会

3)第21回日本医療薬学会年次学術集会(演題提出)

謝 辞

本研究を行うにあたり，指導教員の新潟薬科大学薬学部臨床薬学研究室准教授　朝倉俊成先生には本研究の実施の機会を与えていただき、その遂行にあたって終始丁寧かつ熱心にご指導いただきました。ここに深く感謝いたします．同高度薬剤師教育研究センター准教授　高中紘一郎先生には副査としてご助言をいただくとともに本論文の細部にわたりご指導をいただき深く感謝いたします．また，本研究の遂行にあたり日頃から様々なご指導をいただきました同臨床薬学研究室教授　影向範昭先生，同助教　齊藤幹央先生，同助教　阿部学先生，同助手　影山美穂先生に深く感謝いたします．

さらに，本研究 3 章の実験に際して学部を超えてご指導いただきました，新潟薬科大学応用生命科学部食品微生物・食品安全科学研究室教授　浦上弘先生，同助教　小長谷幸史先生に深く感謝いたします．また，(有)エヌエスファルマ三日市店　幸野武志先生には一から丁寧にご指導いただき深く感謝いたします．そして 2 章の実験にご協力いただきました，新潟薬科大学薬学部臨床薬学研究室の柄沢仁美氏と計良志津樹氏に深く感謝いたします．また，2 章のアンケート調査を行うにあたりご尽力くださいました，せいの内科クリニック院長　清野弘明先生，新潟中央病院薬剤部長　原栄子先生，新潟県厚生連魚沼病院薬剤部　丸山歩先生，フローラ調剤薬局河和田店　篠原久仁子先生，調剤薬局ミッテル開成店　高橋正晃先生，大内賀津子先生に深く感謝いたします．

引 用 文 献

1. 篠原久仁子, 朝倉俊成, 虎石顕一:糖尿病患者を対象とした多施設(病院・薬局)でのインスリン使用実態調査. 医療薬学, 33(12):1044～1050, 2007.
2. 平田幸正:糖尿病の治療[第 2 版]. 文光堂, 東京, 586～587, 2003.
3. Peter M Jehle, Clemens Micheler, Daniela R Jehle, Dieter Breitig, Bernhard O Boehm: Inadequate suspension of neutral protamine Hagendorn (NPH) insulin in pens. THE LANCET 354:1604～1607, 1999.
4. A.Brown, J.Steel, C.Duncan, A.Duncan and A.M.McBaint: An assessment of the adequacy of suspension of insulin in pen injectors. DiabetesUK. Diabetic Medicine 21:604～608, 2004.
5. Pia Kaiser, Sebastian Maxeiner, Alexander Weise, Florain Nolden, Anja Borck, Thomas Forst and Andreas Pfützner: Assessment of the Mixing Efficiency of Neutral Protamine Hagedorn Cartridges. Journal of Diabetes Science and Technology 4(3):652～657, 2010.
6. 太田由美, 成橋和正, 太田英夫, 西尾千草, 北潤奈巳, 岡久美子, 中田勝:外来インスリン自己注射手技継続指導への薬剤師の関与. 日病薬誌, 42(4):493～497, 2006.
7. 森永郁代, 飯泉智弘, 佐藤香理, 椎貝達夫, 戸村成男:糖尿病センターにおける患者指導―インスリン注射手技の評価について―. 関東農村医学会抄録集, 29:82～83, 2002.
8. ノボリン®R 注, 30R 注, 40R 注, 50R 注, N 注フレックスペン®使用説明書:ノボ ノルディスク ファーマ株式会社
9. ノボラピッド®30 ミックス注フレックスペン®添付文書:ノボ ノルディスク ファーマ株式会社
10. ヒューマログ®注, ミックス 25 注, ミックス 50 注, N 注ミリオペン®取扱説明書:日本イーライリリー株式会社

11.　朝倉俊成, 清野弘明, 野崎征支郎, 阿部隆三：インスリン自己注射手技とNPHおよび混合型インスリン製剤の白濁沈殿時間との関係―インスリン製剤の注射前沈殿防止とその手技指導についての考察―. 糖尿病, 43(10)：887～891, 2000.
12.　大谷哲平, 三浦次郎, 後藤康二：ペン型インスリン製剤の簡便な混和方法を求めて. 糖尿病, 45(4)：263～267, 2002.
13.　朝倉俊成, 松本晃一, 片桐歩, 戸谷仁子, 虎石顕一, 武藤達也, 中野玲子：懸濁インスリン製剤の混和操作指導の実態と指導用資材の検討. プラクティス, 24(3)：344～350, 2007.
14.　第十六改正日本薬局方
15.　朝倉俊成, 清野弘明, 松井優花, 安江尚子, 添田かおり, 井上正弘：インスリン注入器カートリッジ内への血液逆流の頻度と防止対策への一考察. Prog Med, 23：3066～3071, 2003.
16.　Jean-Pierre Le Floch, Françoise Lange, Catherine Herbreteau, Léon Perlemuter：Biologic Material in Needles and Cartridges After Insulin Injection With a Pen in Diabetic Patients. Diabetes Care, 21(9)：1502～1504, 1998.
17.　津島律, 新堀満子：自己注射患者使用後のインスリンバイアル内の汚染―インスリン溶液中の温度条件別検討―. 弘前大学教育学部紀要, 47：75～80, 1982.
18.　山本昌弘, 川久保明利, 犬塚和久, 河合浩樹, 佐野奈緒美：インスリン自己注射患者のバイアル内細菌汚染. 日農医誌, 41(5)：1038～1041, 1993.
19.　岸田充広, 寺澤千佳子, 大田博子, 町支臣成, 堀本重紀, 林田静恵, 長尾幸江, 石橋不可止, 高科成良：インスリンバイアルの使用法および保存条件と細菌汚染に関する検討. 医薬ジャーナル, 27(3)：548～554, 1991.
20.　柄沢仁美：臨床使用におけるインスリン及びGLP-1受容体作動薬プレフィルド製剤への異物混入の可能性と患者指導に向けたその防止策の検討
21.　幸野武志, 大久保耕嗣, 朝倉俊成：ランタス注バイアル製剤の長期使用に伴う微生物汚染の可能性. 糖尿病, 50；S-148, 2007.